Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/L.
Komm. Direktor: Prof. Dr. med. G. Rodeck

Tierexperimentelle Untersuchungen zur intravitalen Fluorochromierung mit Oxytetrazyklin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philippsuniversität Marburg an der Lahn

vorgelegt von

Sibylle Domnick
aus Weissenfels/Saale

Marburg 1969

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/L.
Komm. Direktor: Prof. Dr. med. G. Rodeck

Tierexperimentelle Untersuchungen zur intravitalen Fluorochromierung mit Oxytetrazyklin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philippsuniversität Marburg an der Lahn

vorgelegt von

Sibylle Domnick
aus Weissenfels/Saale

Marburg 1969

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg/L am 23.1.1969

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub
Referent: Priv. Doz. Dr.med. K. Hupe
Correferent: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

INHALTSVERZEICHNIS Seite

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methodik	2
2.1	Primärfluoreszenz parenchymatöser Organe	2
2.2	Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz parenchymatöser Organe	3
2.3	Transplantation verschiedener Tiertumoren	3
2.31	Rattentumoren	3
2.32	Mäusetumoren	3
2.4	Schädigungen und Nekrosen verschiedener parenchymatöser Organe	4
2.41	Vigantol	4
2.42	Tetrachlorkohlenstoff	5
2.43	Kältenekrosen und Ischiämie der Nieren	5
2.44	Kältenekrosen an Magen, Jejunum und Colon	5
2.45	Kalziumchloridnekrosen des Muskels	6
2.5	Methodik der Tetrazyklinapplikation und der histologischen Technik	6
3.	Ergebnisse	8
3.1	Primärfluoreszenz parenchymatöser Organe	8
3.2	Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz parenchymatöser Organe	9
3.3	Fluoreszenz bei verschiedenen Tiertumoren	10
3.31	Rattentumoren	10
3.32	Mäusetumoren	11
3.4	Fluoreszenz bei Schädigungen und Nekrosen verschiedener parenchymatöser Organe	12
3.41	Vigantol	12
3.42	Tetrachlorkohlenstoff	14
3.43	Kältenekrosen und Ischiämie der Nieren	15

Seite

3.44	Kältenekrosen an Magen, Jejunum und Colon	16
3.45	Kalziumchloridnekrosen im Muskel	17
4.	Diskussion	18
4.1	Physikalische und chemische Ursachen der Fluoreszenz	18
4.2	Primärfluoreszenz parenchymatöser Organe	21
4.3	Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz verschiedener parenchymatöser Organe im gesunden Organismus	22
4.4.	Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz in pathologisch veränderten parenchymatösen Organen	28
4.5	Verhalten des Tetrazyklins im Tumorgewebe	31
5.	Zusammenfassung	35
6.	Literaturverzeichnis	38

1. EINLEITUNG

Für die erfolgreiche Therapie eines Tumorleidens ist die möglichst frühzeitige Erkennung und die möglichst genaue Lokalisation der Geschwulst und eventuell vorhandener Tochtergeschwülste von entscheidender Bedeutung. Der Tumordiagnostik stehen heute in der Klinik verschiedene Untersuchungsmethoden zur Verfügung. Sie beruhen entweder auf der Darstellung des Tumors selbst, z. B. bei der histologischen Untersuchung einer Probeexzision, oder auf dem Nachweis spezifischer Veränderungen, z. B. Änderung der Schattendichte im Röntgenbild.

Eine neue Nachweismethode ist der 1957 von RALL et al. angegebene Tetrazyklinfluoreszenztest. Hierbei wird tumorverdächtiges Material nach intravitaler Fluorochromierung mit Tetrazyklinen unter ultravioletter Bestrahlung makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

Fluoreszierende Substanzen sind seit langem bekannt. Die Erscheinung der Fluoreszenz beruht auf der Fähigkeit mancher Moleküle, die in Form von Photonen aufgenommene Energie wieder in Form von Photonen abgeben zu können, wobei es aber zu einem Frequenzabfall der emittierten Strahlung kommt. So kann eine unsichtbare, aber durch energiereiche Strahlung erregte Substanz, z. B. UV-Strahlung oder Röntgenstrahlung, sichtbar gemacht werden.

Die natürlicherweise im Säugetierorganismus vorkommenden fluoreszierenden Substanzen rufen die sogenannte Primär- oder Eigenfluoreszenz hervor. Chemisch sind es Fette, Lipoide und Eiweißstoffe.

Durch intravitale oder postmortale Anfärbung mit Fluoreszenzfarbstoffen wird die sogenannte Sekundärfluoreszenz oder sekundäre Organfluoreszenz hervorgerufen. Solche Farbstoffe sind z. B. Geranin oder Thioflavin.

1953 berichteten HELANDER und BÖTTIGER von der Möglichkeit einer intravitalen Fluorochromierung verschiedener Gewebe mit Tetrazyklin und dessen Derivaten. In den untersuchten Gewebsproben fanden sich dabei ganz unterschiedliche Organkonzentrationen. Aufgrund dieser wechselnden Anreicherung wurden Tetrazykline, wegen ähnlichen färberischen Verhaltens auch Atebrin und Acranil, von verschiedenen Autoren für zytodiagnostische Differenzierungen von malignen und benignen Organveränderungen empfohlen. Über den Aussagewert dieser Untersuchungsmethoden werden unterschiedliche Angaben gemacht.

In vorliegender Arbeit wurde die durch Tetrazyklin hervorgerufene Sekundärfluoreszenz an mikroskopischen Schnitten von Tiertumoren, von gesunden und von pathologisch veränderten Organen untersucht.

2. MATERIAL UND METHODIK

2.1 Primärfluoreszenz parenchymatöser Organe

Versuchstiere waren 25o g schwere weiße, weibliche Wistar-WU-Ratten (Zucht: S. Ivanovas, Kisslegg/Allgäu) und 2o - 25 g schwere weiße, weibliche Mäuse vom Stamm NMRI-Kisslegg (Zucht: S. Ivanovas, Kisslegg/Allgäu).

In Vorversuchen prüften wir zunächst die Eigenfluoreszenz verschiedener parenchymatöser Organe bei unbehandelten Tieren. Untersucht wurden: Großhirn, Kleinhirn, Herzmuskel, Bauchmuskel, Rippenknochen, Leber, Niere, Magen, Dünndarm, Dickdarm, Milz, Lunge und Haut.

2.2 Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz parenchymatöser Organe

In der folgenden Versuchsreihe wurde an oben genannten Organen die tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz geprüft.

2.3 Transplantation verschiedener Tiertumoren

2.31 Rattentumoren

Für die Untersuchungsserien an Tiertumoren verwandten wir folgende Tumorstämme:

1. Walker-BASF (subcutan)
   1. Tetrazyklininjektion am 9. - 11. Tag post impl.
2. Jensen-Sarkom (subcutan)
   1. Tetrazyklininjektion am 1o. - 12. Tag post impl.
3. Yoshida-Sarkom (subcutan)
   1. Tetracyklininjektion am 6. Tag post impl.

2.32 Mäusetumoren

1. Crocker-Sarkom (subcutan)
   1. Tetrazyklininjektion am 5. - 8. Tag post impl.
2. Ehrlich-Karzinom (intramuskulär)
   1. Tetrazyklininjektion am 5. - 8. Tag post impl.
3. L-4946-Lymphosarkom (intramuskulär)
   1. Tetrazyklininjektion am 1o. - 15. Tag post impl.

Die von uns untersuchten Tumorstämme bezogen wir auf tumortragenden Tieren von der Firma Hoechst.

Für die eigentlichen Versuchsserien wurde diesen Tieren das Tumorgewebe unter sterilen Kautelen entnommen, unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung mechanisch mit einer Schere zerkleinert und nach weiterem Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung mittels einer Punktionsnadel den Versuchstieren entweder subcutan unter die Nackenhaut oder intramuskulär in den linken Oberschenkel überimpft. Eine tastbare Tumorbildung trat am Ort der Implantation zwischen dem 6. und dem 15. Tag nach Überimpfung auf. Nach diesem Zeitintervall erfolgte die Tetrazyklinmedikation über jeweils drei Tage. Nach einem eintägigen medikationsfreien Intervall wurden die Tiere getötet. Die Gewebsproben wurden, soweit makroskopisch abgrenzbar, aus dem Tumor, wenn vorhanden auch aus nekrotischen Tumorteilen und aus gesundem Gewebe entnommen.

2.4 Schädigungen und Nekrosen verschiedener parenchymatöser Organe

Zum Nachweis der Tetrazyklinanreicherung in schwer geschädigtem und nekrotischem Gewebe benutzten wir verschiedene Arten von schädigenden Substanzen.

2.41 Vigantol

Sechs Ratten erhielten an 12 aufeinanderfolgenden Tagen je o,2 ml Vigantol forte (= 3 mg oder 12o ooo I.E. Vit D_3) intramuskulär abwechselnd in den rechten und linken Oberschenkel injiziert, Gesamtdosis 36 mg. Am achten, neunten und zehnten Tag der Versuchsreihe erhielten die Tiere zusätzlich 1oo mg/kg/Tag Terravenös intraperitoneal injiziert. Der elfte Tag war bezüglich der Tetrazyklinapplikation freies Intervall. Am dreizehnten Tag wurden die

Tiere getötet und aus Lunge, Magen, Herz und Nieren Organproben entnommen.

2.42 Tetrachlorkohlenstoff

Sechs Ratten wurden zunächst über drei Tage 1oo mg/kg/Tag Terravenös intraperitoneal injiziert. Am dritten Tag wurde ihnen zusätzlich über eine Schlundsonde o,5 ml Tetrachlorkohlenstoff appliziert. Am 5. Tag wurden die Tiere getötet und aus Leber, Magen und Nieren Organproben entnommen.

2.43 Kältenekrosen und Ischiämie der Nieren

In einem Doppelversuch wurden an beiden Nieren der sechs Versuchstiere ischiämische Organschädigungen und Kältenekrosen erzeugt. In Äthernarkose wurde durch eine mediane Laparotomie der rechte Nierengefäßpol für 3o Minuten abgeklemmt und der untere Pol der linken Niere lokal 5 - 1o Minuten lang mit CO_2-Schnee vereist. An den darauffolgenden drei Tagen wurde den Tieren 1oo mg/kg/Tag Terravenös i.p. injiziert. Am fünften Tag wurden die Tiere getötet und beide Nieren zur Untersuchung entnommen.

2.44 Kältenekrosen an Magen, Jejunum und Colon

An sechs Ratten wurde in Äthernarkose, nach Eröffnen des Bauchraumes durch eine mediane Laparotomie, die vordere Magenwand und das obere Jejunum, in einer zweiten Serie von sechs Ratten nur unteres Colon mit einem etwa fingerkuppengroßen Stückchen Kohlensäureschnee für 5 - 1o Minuten von außen bis zum völligen Durcheisen schwer geschädigt. An den folgenden drei Tagen wurde den Tieren 1oo mg/kg/Tag Terravenös intraperitoneal injiziert. Am fünften Tag wurden die Tiere getötet und die makroskopisch sichtbar geschädigten Organe entnommen.

2.45 Kalziumchloridnekrosen des Muskels

Sechs Ratten wurde eine einmalige Dosis von o,5 ml einer wässrigen 5-%igen $CaCl_2$-Lösung zur Erzeugung einer Koagulationsnekrose in das rechte Hinterbein injiziert. 48 Stunden danach begann die Tetrazyklinapplikation von 1oo mg/kg/Tag intraperitoneal. Am siebenten Tag wurden die Tiere getötet und der rechte Oberschenkel entnommen.

2.5 Methodik der Tetrazyklinapplikation und der histologischen Technik

Für die Untersuchungen wurde das Tetrazyklinderivat Terravenös, ein 5-hydroxy-Tetrazyklin der Firma Pfizer benutzt. Für alle Versuche betrug die Dosis 1oo mg/kg/Tag bei intraperitonealer Applikation. Das Medikament wurde stets an drei aufeinanderfolgenden Tagen vormittags den Tieren injiziert, sodaß die Gesamtdosis für Ratten 75 mg betrug und für Mäuse 7,5 mg. Nach einem medikationsfreien Intervall von 48 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere durch Inhalation einer hochprozentigen Ätherlösung getötet und sofort obduziert. Die Auswertung der Versuchspräparate erfolgte stets am selben Tage.

Unfixierte Gewebsproben wurden sofort nach Töten der Tiere mit dem Gefriermikrotom geschnitten, in Gurr's Uvinert Mountant (Firma George T. Gurr LTD. London) oder in physiologischer Kochsalzlösung eingebettet und sofort im Fluoreszenzmikroskop beurteilt. Dieselben Organproben wurden weiterhin für mindestens 14 Tage in 7o-%igem Alkohol fixiert und in Paraffin eingebettet. 5 µ dicke Schnitte wurden nach Entparaffinieren ungefärbt in Gurr's Uvinert Mountant als Dauerpräparate eingebettet und dienten der spä-

teren Kontrolle für die gefriergeschnittenen Sofortpräparate im Fluoreszenzmikroskop. Zur Orientierung im Mikroskop bei normalem Durchlicht wurden von denselben Paraffinschnitten hämatoxylin-eosin gefärbte und in Canadabalsam eingebettete Präparate angefertigt, bzw. zum Kalknachweis die Kossafärbung durchgeführt.

Die Auswertung der mikroskopischen Präparate erfolgte mit dem großen Zeiss-Fluoreszenzmikroskop, das durch Ausrüstung mit Sperrfiltern und der grossen Zeiss-Fluoreszenzleuchte mit dem Quecksilberhöchstdruckbrenner HBO - 2oo W zu einer Fluoreszenzeinrichtung zusammengestellt worden war. Die Filterkombination war stets dieselbe und bestand aus den Erregerfiltern BG 38/2,5 und BG 12/4, sowie den Sperrfiltern 53/44. Die Kombination der Erregerfilter schränkte den Bereich der von der Quecksilberleuchte gelieferten Erregerstrahlung auf einen Durchlaßbereich von 3oo bis 5oo nm mit einem Durchlaßmaximum bei etwa 4oo nm ein. Die Sperrfilter absorbierten das kurzwellige Erregerlicht und ließen nur das längerwellige Licht des Fluoreszenzbildes passieren, bei der angewandten Kombination der Sperrfilter war das im Wellenlängenbereich oberhalb 41o nm der Fall.

Es wurden dreizehn verschiedene Versuchsgruppen untersucht. Jeder einzelne Versuch wurde an sechs Ratten, bzw. Mäusen durchgeführt, um eine größtmögliche statistische Genauigkeit zu erzielen bei geringer Zahl von Versuchstieren. Es wurden 78 Versuchstiere untersucht.

3. ERGEBNISSE

3.1 Primärfluoreszenz parenchymatöser Organe

Beurteilung der primären Fluoreszenz parenchymatöser Organe:

a) Großhirn : In der Großhirnrinde fanden sich feinkörnige, orangerote, parallel zur Oberfläche angeordnete, fluoreszierende Partikel. Sie entsprachen in ihrer Anordnung der Gestalt der Pyramidenzellen. Das Marklager enthielt wenige, streifenförmig im Bindegewebe liegende und gelb fluoreszierende Strukturen.

b) Kleinhirn : Die Ganglienzellen, speziell die Purkinjezellen, traten durch feingranuläre, goldgelbe Fluoreszenz hervor. Der Nucleus stellte sich als dunkles Scheibchen im mit fluoreszierenden Granula angefüllten Plasma dar.

c) Lunge : Die elastischen und kollagenen Fasern des Stützgewebes fluoreszierten schwach grün.

d) Leber : Nur die Kupfferschen Sternzellen wiesen eine feingranuläre, bisweilen auch grobbröcklige Fluoreszenz besonders in der Umgebung der Gefäße auf. Darüberhinaus fand sich eine schwache Fluoreszenz in den Azinuszentren der Leberläppchen.

e) Milz : In den Milzfollikeln fluoreszierten Zellen, die zirkulär die Zentralarterie am Rande der Reaktionszentren umgaben. Von dieser hellgelben Fluoreszenz hob sich deutlich die rotgelbe, feinkörnige Fluoreszenz der Zellen der roten Milzpulpa ab.

f) Magen : Die Zellen der Fundusdrüsen enthielten feine, goldgelb fluoreszierende Granula, und zwar die Zellen der unteren Drüsenabschnitte mit vielen fermentbildenden Zellen weit mehr, als die der obe-

ren Drüsenabschnitte. Im Stroma der Fundusdrüsen fanden sich vereinzelt Zellen mit großen, hellgelb fluoreszierenden Grana.

g) Dünndarm : Die Drüsenzellen im Grunde der Lieberkühnschen Krypten fluoreszierten ähnlich wie die Fundusdrüsenzellen goldgelb.

h) Dickdarm : Einzelne Zellen im Stroma der tunica mucosa fluoreszierten goldgelb. Die Epithelzellen waren negativ.

i) Haut : Die Haare fluoreszierten leuchtend gelbgrün, das stratum lucidum der Epidermis braun, die Bindegewebsfasern grün. Einige Zellen des Corium enthielten goldgelbe Granula.

k) Muskel : Nur im Bindegewebe fanden sich einzelne, gelb fluoreszierende Zellen.

l) Herz : Feine, gelb fluoreszierende Granula saßen kappenförmig den Kernpolen der Herzmuskelzellen auf. Im gefäßführenden Bindegewebe fanden sich wenige gelb fluoreszierende Zellen.

m) Knochen : Nur die Bindegewebsfasern fluoreszierten grün.

n) Niere : In den basalen Abschnitten der Epithelzellen der Tubuli contorti I und II fanden sich orangegelb fluoreszierende, feine Granula. Glomerula und Bindegewebe bis auf die Bindegewebsfasern, waren negativ, ebenso das Nierenmark.

3.2 Tetrazyclinindizierte Sekundärfluoreszenz parenchymatöser Organe

Nur die Nieren und der Knochen zeigten noch nach dem 48-stündigen medikationsfreien Intervall neben

der in den Leerversuchen gefundenen Eigenfluoreszenz die typische hellgelbe Tetrazyklinfluoreszenz. Die in Gurr's Uvinert Mountant eingebetteten, ungefärbten Dauerpräparate wiesen allgemein eine hellere Gewebsfluoreszenz auf als die Gefrierschnitte, besonders unter der Organkapsel, soweit diese im mikroskopischen Schnitt vorhanden war.

a) Niere : Es fanden sich auf die Rinde begrenzte, besonders subcapsulär gelegene, hellgelbe, unscharf begrenzte Fluoreszenzherde inmitten der schwächeren diffusen Fluoreszenz der Nierenrinde. Diese Herde stellten sich bei stärkerer Vergrößerung als helle, homogene Tröpfchen und Bröckchen im Tubuluslumen dar, in deren Umgebung sich die Tubulusepithelien durch stärkere Fluoreszenz hervorhoben. Hierbei waren Zellkerne und Plasma stärker angefärbt. Die Zellkerne der Glomerulumschlingen zeigten eine stärkere grüngelbe Fluoreszenz.

b) Knochen : Als schmaler Saum unter dem Periost und Endost fluoreszierte das Osteoid in einer in keinem anderen Organ angetroffenen Helligkeit. Darüberhinaus fluoreszierten die Grenzflächen der Knochenhöhlchen.

3.3 Fluoreszenz bei verschiedenen Tiertumoren

3.31 Rattentumoren

a) Walker-BASF : Die polymorphzelligen Tumormassen wiesen regressive Veränderungen auf: teilweise zeigten die Zellen eine vakuoläre Degeneration mit schaumigem Plasma, teils fanden sich Nekroseherde mit Kernzerfall und stark eosinophilem Plasma. Nie zeichneten sich die Tumorzellen in den ungefärbten Präparaten im Woodlicht durch eine gelbe Tetrazyklin-

fluoreszenz aus. Von den Tumorzellen waren größere, hauptsächlich im Gefäßbindegewebe und in der Tumorkapsel liegende Zellen zu unterscheiden. Sie waren größer, hatten einen sehr großen, lockeren Kern und basophiles Plasma. Im UV-Licht enthielten sie große, gelb fluoreszierende Schollen. In keinem anderen Tumor waren diese Zellen in einer solchen Vielzahl anzutreffen.

b) Jensen-Sarkom : In dem polymorphzelligen Sarkom fand sich keine für Tetrazyklin typische Gelbfluoreszenz. Auffallend waren die reichlich vorhandenen, grün fluoreszierenden Bindegewebsfasern. Einige im HE-Präparat basophile Bindegewebszellen enthielten im UV-Licht goldgelb fluoreszierende Granula.

c) Yoshida-Sarkom : Die Tumorzellen des Rundzellsarkoms zeigten keine Tetrazyklinfluoreszenz. Im HE-Präparat fanden sich Zellen mit basophilem Plasma, das im UV-Licht gelb fluoreszierende Granula enthielt. Diese Zellen lagen im Bindegewebe. Im HE-Präparat waren ausgedehnte Nekrosen nachweisbar, die im UV-Licht nicht fluoreszierten.

3.32 Mäusetumoren

a) Crocker-Sarkom 180 : Der Tumor zeigte keine gelbe Tetrazyklinfluoreszenz, er stellte sich als locker gefügtes, sehr gefäßreiches polymorphzelliges Gewebe dar. Die Zellen enthielten reichlich kleine und grosse Vakuolen. Nekroseherde waren im HE-Präparat nicht nachweisbar. Vereinzelt enthielten Zellen im Bindegewebe gelb fluoreszierende Schollen.

b) Ehrlich-Karzinom : Der polymorphzellige, stark zwischen die Muskelfasern eingewachsene Tumor enthielt keine Nekroseherde. Die Tumorzellen zeigten

keine Tetrazyklinfluoreszenz, neigten aber zu vakuolärer Degeneration.

c) L-4946-Lymphosarkom : Der kleinzellige Tumor zeigte keine gelbe Tetrazyklinfluoreszenz. Im HE-Präparat waren Nekroseherde nachweisbar. Das umgebende Gewebe zeigte eine starke lymphatische Reaktion.

3.4 Fluoreszenz bei Schädigungen und Nekrosen verschiedener parenchymatöser Organe

3.41 Vigantol

Von der Verkalkung waren in besonderem Maße Lunge, Magen, Herz und Nieren betroffen. Nur die Nieren wiesen makroskopisch sichtbare Veränderungen auf in Form ungefähr $1mm^2$ großer, weißer Flecken auf der Oberfläche.

a) Lunge : Bei drei der sechs Versuchstiere fluoreszierten in einem goldgelben Farbton kleinbröcklige, sandartige oder tröpfchenförmige Strukturen, die im Alveolarbindegewebe oder an der Intima-Media-Grenze der größeren Gefäße lagen. Die Kossafärbung erbrachte den Nachweis von Kalkmetastasen.

b) Magen : Eine an Intensität und Farbe der Knochenfluoreszenz gleichende Fluoreszenz befand sich im mittleren Abschnitt der Fundusdrüsen, und zwar dort, wo das Drüsenepithel vorwiegend aus den HCl-produzierenden Belegzellen besteht. Diese Stellen, an denen die Tubulusepithelien zerstört waren, hoben sich in der HE-Färbung durch reichliche basophile grobschollige Niederschläge hervor. Die Kossafärbung erbrachte den Nachweis von Kalkmetastasen.

Abbildung 1 : Tetrazyklinfluoreszenz von Kalkmetastasen in der Magenschleimhaut. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme, Vergr. 75-fach.

b) Herz : Wie in den Lungengefäßen fanden sich auch in den Herzkranzgefäßen gelb fluoreszierende Wandveränderungen in der Gefäßintima. Es handelte sich auch hier um Kalkniederschläge. Der Herzmuskel selbst war negativ.

c) Niere : Im UV-Licht fluoreszierte das gesamte Nierenparenchym hellgelb. Diese Fluoreszenz rührte von gelb leichtenden Tröpfchen in fast sämtlichen Tubuluszellen her und von größeren Schollen, die bevorzugt in den geraden Anteilen der Harnkanälchen also im Nierenmark lagen. Diese Schollen füllten die Tubuluslumina oder lagen zwischen den Tubuli im Bindegewebe. Sie waren im HE.-Präparat basophil angefärbt.

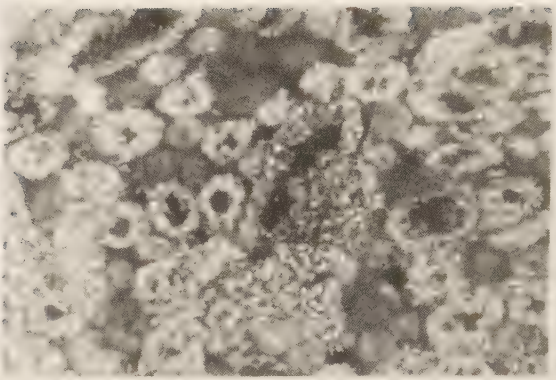

Abbildung 2 : Tetrazyklinfluoreszenz in der Nierenrinde. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme, Vergr. 190-fach.

d) Leber : Die Leberzellen zeigten eine vakuoläre Degeneration, wobei die Vakuolen aber keinerlei Gelbfluoreszenz aufwiesen.

3.42 Tetrachlorkohlenstoff

a) Magen : Die oberen Anteile der Fundusdrüsen waren vollkommen zerstört und wirkten wie abgehobelt. An der Oberfläche klebte ein Detritus aus abgestossenen Zellen, Schleim und Nahrungsbrei. An manchen Stellen enthielt dieser Detritus hellgelb fluoreszierende Schollen. Die basalen Anteile der Fundusdrüsen enthielten vermehrt Schleimzellen und sehr viele Lymphozyten im umgebenden Bindegewebe. Die Submucosa und Muskularis waren unverändert.

b) Leber : Alle Zellen des aufgelockerten Leberparenchyms wiesen vakuoläre Degeneration auf. Die Zellen der Azinuszentren enthielten kleintropfige, im UV-Licht lindgrün fluoreszierende Vakuolen, die

Zellen der Azinusperipherie enthielten meist nur eine, den ganzen Zelleib ausfüllende, nicht fluoreszierende Vakuole. Im Azinuszentrum gingen die Zellen in Nekrose über, erkennbar an Karyorhexis und Kernpyknosen, sowie einem stärker eosinophilem Plasma. Das wabige Plasma der Azinusperipherie war leicht basophil.

C) Niere : Das Nierenparenchym wies in allen Fällen eine kleintropfige vakuoläre Degeneration auf und pyknotische Zellkerne. Sowohl Tubuluszellen, als auch Tubuluslumina enthielten keine fluoreszierenden Bröckchen.

3,43 Kältenekrosen und Ischiämie der Nieren

Durch die CO_2-Schneevereisung konnten streng lokalisierte, gut abgrenzbare nekrotische Parenchymveränderungen erzielt werden. Sie waren gekennzeichnet durch Verlust der Kernfärbbarkeit in sämtlichen Zellen und durch deutlich eosinophiles Zellplasma. Die Zellkonturen waren verwischt, die Glomerula nur noch undeutlich zu erkennen.

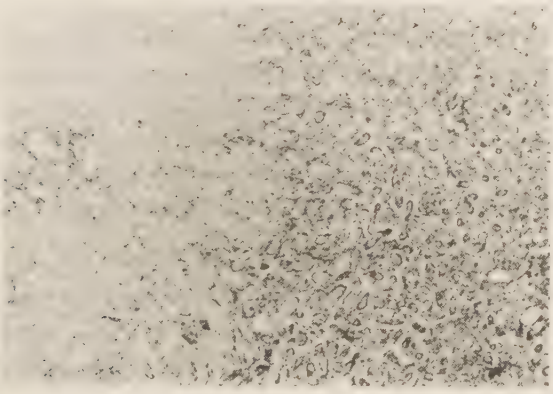

Abbildung 3 a : Lokale Schädigung eines Nierenpoles durch CO_2-Schnee. HE-Färbung, Vergr. 9o-fach

Das umgebende gesunde Gewebe zeigte eine reaktive Lymphozyteninfiltration. Im UV-Licht zeigten alle nekrotischen Gewebsanteile, die im HE-Präparat eosinophil waren, eine deutliche Gelbfluoreszenz.

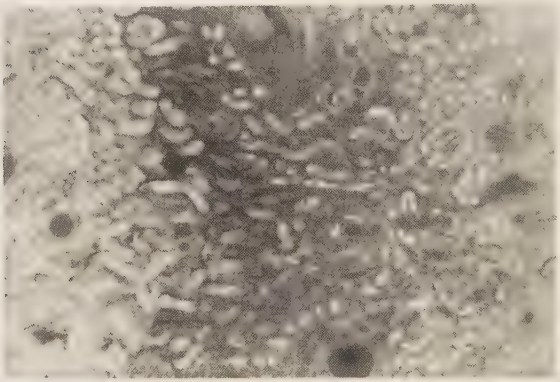

Abbildung 3 b : Lokale Schädigung eines Nierenpoles durch CO_2-Schnee. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme, Vergr. 9o-fach.

Die durch die halbstündige Ischiämie bedingte Schädigung des Nierenparenchyms war weit geringer als die durch lokale Vereisung. Nur hin und wieder fanden sich über das ganze Parenchym verstreut einzelne zugrundegegangene Tubuluszellen, die im ungefärbten Präparat im UV-Licht gelb fluoreszierten.

3.44 Kältenekrosen an Magen, Jejunum und Colon

Da die CO_2-Schneenekrosen an Organen mit starker bakterieller Besiedelung gesetzt wurden, ist eine Verfälschung der Ergebnisse durch Bakterienautofluoreszenz nicht auszuschließen.

a) Magen : Die nekrotische Muskularis zeigte schwach eosinophile, im UV-Licht ockergelb fluoreszierende, schollig zerfallene Muskelzellen. Zellhaufen mit derselben gelben Fluoreszenz fanden sich in der Mukosa. Davon unterschieden sich einzelne goldgelb fluoreszierende Bezirke, die bei normalem Licht im HE-Präparat basophil waren. Der der Oberfläche anhaftende Nahrungsbrei fluoreszierte in allen Farben.

b) Jejunum : Der Befund der Dünndarmnekrosen unterschied sich nicht von dem der Magennekrosen. In zwei Präparaten fanden sich bei völliger Zerstörung der Zellstrukturen im HE-Präparat basophile und im UV-Präparat gelb fluoreszierende Schollen. Geschädigte Bezirke mit noch erkennbaren Zellgrenzen zeigten eine fahlgelbe, grobkörnige Fluoreszenz.

c) Colon : Die allgemeine Fluoreszenz war vermindert. Wieder fielen im HE-Präparat basophile und im UV-Präparat goldgelb fluoreszierende Granula im Zelldetritus auf.

3.45 Kalziumchloridnekrosen im Muskel

Bei allen Versuchen fanden sich Nekroseherde, die in der HE-Färbung durch eosinophiles Plasma, schol-ligen Fibrillenzerfall, Kernlosigkeit und einen lymphozytären Randwall gekennzeichnet waren. Die zerstörten Muskelzellen fluoreszierten ockergelb. Basophile Granula waren nicht vorhanden.

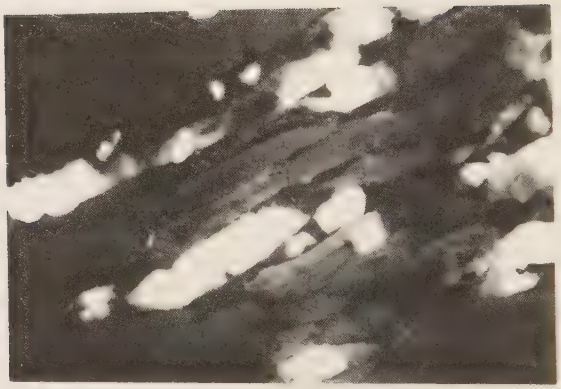

Abbildung 4 : Tetrazyklinfluoreszenz in $CaCl_2$-Muskelnekrose.
Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme,
Vergr. 190-fach.

4. D I S K U S S I O N

4.1 Physikalische und chemische Ursachen der Fluoreszenz

Die Bezeichnung Fluoreszenz ist auf den Flußspat (Fluorit) zurückzuführen, an dessen blau und grün gefärbten Exemplaren zum ersten Male die (violette) Fluoreszenz beobachtet wurde.

Wenn irgend ein Körper fluoresziert, so wird das auf ihn fallende Licht in großem Maße in eine andere Lichtart von meist geringerer Frequenz und größerer Wellenlänge umgewandelt. Die fluoreszierenden Moleküle werden dabei zu eigenen Lichtquellen. Spektralanalytische Untersuchungen des Fluoreszenzlichtes ergaben, daß die erregten Strahlen eine größere Wellenlänge haben als die erregenden (Stokes'sche Regel),

daß also ein Frequenzverlust bei der Aussendung des Fluoreszenzlichtes eintritt.

Dieser Regel entsprechend sind die roten und ultraroten Strahlen nicht in der Lage, eine Fluoreszenz zu erregen, während andererseits die violetten und ultravioletten Strahlen die wirksamsten Erreger sind.

Fluoreszenzerscheinungen finden sich bei gasförmigen, gelösten flüssigen und festen Stoffen. Sie sind an die Existenz bestimmter Atomgruppen in den Molekülen geknüpft, wobei es sich vornehmlich um gewisse sechsgliedrige, meist heterocyklische Ringe handelt, wie der Pyran-, Oxazon- oder Thiazinring, ferner die Atomgruppierungen im Anthrazen und Akridin. Bekannte anorganische fluoreszierende Stoffe sind: Joddämpfe, Natriumdämpfe, Quecksilberdämpfe, Uransalze und Flußspat, von dem ja die Bezeichnung herrührt.

Viel häufiger sind fluoreszierende organische Stoffe, vor allem Benzolderivate aller Art, wobei durch Alkylierung eine Verstärkung der Fluoreszenz im Rotbereich eintritt. Ähnlich wirken CN-, CH_2-CH-Gruppen, während Halogenisierung nur zu einer geringgradigen Verschiebung der Fluoreszenz unter gleichzeitiger Schwächung der Intensität führt.

Gebräuchliche fluoreszierende Farbstoffe sind: Eosin, Resorcinrot, Resorcinblau, Naphthalinrot, Kurkumafarbstoff, blauer Lackmusfarbstoff und Chlorophyllösung. Neben diesen fluoreszierenden Farbstoffen verwendet man spezielle Fluorochrome zur Differentialfärbung in mikroskopischen Präparaten, z.B. Acridinorange, Brillantdianilgrün, Brillantsulfoflavin, Fluorescein, Geranin, Thioflavin S, Thiazolgelb und Rhodamin. Aber auch pharmakologisch

wirksame und in therapeutischer Absicht angewandte Substanzen fluoreszieren, wie z.B. die verschiedenen Tetrazyklinderivate, was aber nicht verwunderlich ist, da es als Grundgerüst das Naphthaceringsystem (Tetracen) enthält. Andere fluoreszierende Arzneistoffe sind z.B. Rivanol, Atebrin, Acranil, Riboflavin, Trypaflavin, sämtliche Abkömmlinge des Acridins, dessen Ringskelett ein Derivat des Anthracens ist.

Werden Gewebsproben intravital oder postmortal mit einem der oben genannten Fluorochromen angefärbt, so wird die im ultravioletten Licht auftretende Strahlung Sekundärfluoreszenz genannt. Diese kann sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch betrachtet werden. Aber auch selbst nicht fluoreszierende Substanzen können durch Reaktion mit dem Gewebe dieses zur Fluoreszenz befähigen, was zum Beispiel bei den basalgekörnten Zellen des Dünndarmes der Fall ist, die erst durch die Formalinfixierung gelb fluoreszieren. Auf ungewollte Artefakte ist darum bei der Auswertung histologischer Präparate zu achten.

In der Fluoreszenzmikroskopie werden gefärbte und ungefärbte histologische Präparate in den Strahlengang des ultravioletten Lichtes, des Erregerlichtes eingebracht. Als UV-Lichtquelle dient meist eine Quecksilberhochdrucklampe, der verschiedene sogenannte Erregerfilter zur Absorption der längerwelligen sichtbaren und daher störenden Strahlung vorgeschaltet sind. Die fluoreszierenden Objekte verwandeln das ultraviolette, unsichtbare Licnt in längerwelliges, sichtbares Licht und erscheinen daher in den verschiedenen Fluoreszenzfarben leuchtend auf dunklem Grund. Zur Methodik sei noch hinzuge-

fügt, daß zum Schutz des betrachtenden Auges Sperrfilter zur Absorption der schädigenden UV-Strahlen in den Strahlengang zwischen Objektiv und Okular eingebracht werden müssen.

4.2 Primärfluoreszenz parenchymatöser Organe

Wird ein mit Fluorochromen unbehandeltes histologisches Präparat unter ein Fluoreszenzmikroskop gelegt, so kann man unter Umständen trotzdem fluoreszierende Gewebsstrukturen wahrnehmen. Diese natürlicher Weise im menschlichen und tierischen Organismus vorkommenden fluoreszierenden Stoffe rufen die Primär-, Auto- oder Eigenfluoreszenz hervor. Sie ist meist sehr gering, so daß sie makroskopisch gar nicht sichtbar ist und erst mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie beobachtet werden kann.

1932 untersuchte HAMPERL erstmals systematisch die Primärfluoreszenz menschlicher und tierischer Gewebe. Dabei stellte sich die Frage, welche Stoffe dem Gewebe die fluoreszierenden Eigenschaften verliehen, ob sie einheitlicher Natur waren, oder ob sie vielleicht sogar nur Kunstprodukte waren. Die Möglichkeit, fluoreszierende Kunstprodukte im histologischen Präparat vorzufinden konnte durch möglichst schonende Aufarbeitung des Gewebes (Gefrierschnittverfahren und sofortiges Einbetten in nicht fluoreszierende Einbettungsmittel) weitgehend ausgeschlossen werden. Vergleichende andere histochemische Untersuchungen wurden zur Identifikation der Stoffe herangezogen und die die Primärfluoreszenz erzeugenden Stoffe erwiesen sich chemisch als Fette, Lipoide und Eiweißstoffe. Die Frabe des Fluoreszenzlichtes konnte in nur sehr geringem Maße zur Identifikation der Stoffe herangezogen werden.

Im einzelnen wurden folgende Befunde erhoben: Die intrazellulären hellgelb oder goldgelb fluoreszierenden Schollen in den Ganglienzellen der Groß- und Kleinhirnrinde, die den Kernpolen der Herzmuskelzellen häubchenförmig aufsitzenden gelb fluoreszierenden Granula und die schwach goldgelb fluoreszierenden Strukturen in den zentral gelegenen Zellen der Leberacini und der Tubulusepithelien in der Niere sind auf ihren Gehalt an Lipofuscin zurückzuführen.

Die goldgelb fluoreszierenden, groben Schollen in den Zellen des retikulo-histiocytären Systems, besonders in den Makrophagen beruhen auf ihrem Gehalt an Eiweißstoffen und Lipofuscin.

Die Eiweißstoffe der elastischen und kollagenen Fasern hingegen fluoreszieren lindgrün, ebenso wie die Basalmembranen der Lungenalveolen oder die retikulären Fasern in der Milz. Braun fluoreszieren die verhornenden Schichten der Haut und leuchtend gelbgrün die Haare.

Diese von HAMPERL untersuchte und beschriebene Primärfluoreszenz der verschiedenen Organe fanden wir in unseren Vorversuchen an unbehandelten Ratten bestätigt.

Die Überprüfung der Primärfluoreszenz verschiedener Organe erschien uns notwendig für die Abgrenzung der tetrazyklininduzierten Sekundärfluoreszenz in nachfolgenden Untersuchungsreihen.

4.3 Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz verschiedener parenchymatöser Organe im gesunden Organismus

Tetrazykline fluoreszieren in einem kanariengelben Farbton; diese Eigenschaft boten sie für Gewebsfär-

bungen an, besonders da sie in verschiedenen Geweben eine unterschiedliche Konzentration aufweisen (HELANDER und BÖTTIGER). Neben Normalgewebe wurde das Verhalten von Tetrazyklinen an verschiedenen experimentellen Tiertumoren von RALL u. Mitarb. untersucht. Ihnen war eine gelbe Fluoreszenz im Tumorgewebe von Mammakarzinomen bei Patientinnen aufgefallen, denen in therapeutischen Dosen Tetrazykline verabreicht worden war. Das Tetrazyklin schien sich im Tumorgewebe anzusammeln und aus normalem Gewebe - außer Knochen und Zähnen - in Stunden zu schwinden. Seitdem häufen sich die Berichte von Untersuchungsergebnissen experimenteller Arbeiten oder auch klinischer Beobachtungen über den Wert der Tetrazykline als diagnostisches Hilfsmittel bei der Tumordiagnose. Die Ergebnisse schienen zunächst ermutigend.

Was wurde von dem Tetrazyklinfluoreszenztest erwartet ? Mit der intravitalen Fluorochromierung speziell von Tumorgewebe wäre eine Möglichkeit gegeben, intra operationem eine genaue Abgrenzung zwischen gesundem und krankem Gewebe zu ziehen. Die Operationsausdehnung wäre exakter festzulegen gewesen, Metastasen hätten leichter erfaßt werden können, die Heilungschancen wären gestiegen.

Auch die histologische Diagnostik hätte einen weiteren Sicherheitsfaktor gewonnen. Weiterhin hätte , bei hinreichender Anreicherung speziell im Tumorgewebe das Tetrazyklin als Schleppersubstanz für Cytostatika oder Isotope dienen können.

Sowohl unsere Untersuchungsreihen, als auch die anderer Autoren hatten zum Ergebnis, daß die verschiedenen Derivate des Tetrazyklins sich in gesundem Gewebe, in Gewebsproben von Transplantationstumoren,

in experimentellen Organnekrosen, Verkalkungsherden und Organschädigungen durch Tetrachlorkohlenstoff und Kalziumchlorid nicht so verhielten, daß man daraus einen diagnostischen Test oder ein therapeutisches Verfahren ableiten könnte.

Es fragt sich nun, welche Wege des Tetrazyklins im gesunden Organismus verfolgt werden können. Durch die helle Gelbfluoreszenz verrät es in histologischen Schnitten seine Anwesenheit, sofern man annehmen kann, daß bei den Veränderungen im Laufe des Abbaus zumindest das die Fluoreszenz erzeugende Tetracenskelett erhalten bleibt. Es fand sich, daß eine Verteilung des Tetrazyklins und seiner Derivate im Organismus schnell erreicht ist. Es ist, unabhängig von der Applikationsart nach sechs Stunden in allen Organen nachweisbar (KUSCHINSKY u. LÜLLMANN, HELANDER u. BÖTTIGER, Mc LEAY). Die Ausscheidung erfolgt über Leber, Darm und Nieren und soll, mit später noch zu besprechenden Ausnahmen, nach 24 Stunden beendet sein. Dabei findet im Darm teilweise eine Rückresorption statt, (KUSCHINSKY u. LÜLLMANN, LAAS, HELANDER u. BÖTTIGER, WEISSBERG, Mc LEAY). Die Konzentration in den einzelnen Organen ist abhängig von der Dosis, dem Zeitintervall zwischen der Applikation und der Untersuchung der Gewebsproben und der örtlichen Blutversorgung (HELANDER u. BÖTTIGER, MALEK u. Mitarb., RALL u. Mitarb.). Hohe Konzentrationen sollen in Leber und Niere erreicht werden, den Exkretionsorganen. So fluoreszieren in der Niere die Zellen der distalen Tubuli besonders stark, die der proximalen Tubuli und der Sammelröhrchen schwächer; In der Leber zeigen nur die Zellen in den Zentren der Leberläppchen eine starke Tetrazyklinfluoreszenz (HELANDER u. BÖTTIGER)

Sucht man die Lokalisation des Tetrazyklins in den Zellen von Leber und Niere im submikroskopischen Bereich, so findet man eine starke Anreicherung in den Mitochondrien. DU BUY u. SHOWACRE fanden in Affennierenzellkulturen, die mit Oxy- und Chlortetrazyklin behandelt worden waren, die Mitochondrien hellgelb fluoreszierend, Zellkerne, Vakuolen, Plasma und Zellrand dagegen dunkel. Bei längerer Belichtung mit UV-Licht nahm die Fluoreszenz leicht ab. Auch bei Entfernung der tetrazyklinhaltigen Nährlösung trat eine Abschwächung der Fluoreszenz in einigen Stunden ein, nicht dagegen, wenn die Nährlösung nicht gewechselt wurde. In Nativpräparaten von Hirn, Leber und Milz zeigten zwei Stunden nach der Applikation die Leberzellmitochondrien eine schwächere Fluoreszenz und eine noch schwächere die Hirnmitochondrien. Wenn diesen Präparaten nachträglich Tetrazyklin hinzugefügt wurde, nahm die Gelbfluoreszenz der Hirnmitochondrien allerdings noch zu. Ein Zusammenhang zwischen diesem Befund und den Untersuchungsergebnissen von LAAS, der fand, daß die Blut-Liquorschranke nur verzögert passiert wird, ist zu diskutieren. Auch KUSCHINSKY gibt eine nur geringe Liquorkonzentration an.

In Übereinstimmung mit DU BUY u. Mitarb. fanden PAMUKCU u. Mitarb. in einer ganz anderen Versuchsanordnung eine besondere Bindung des Tetrazyklins an Leberzellmitochondrien, und zwar zeigte sich in Ultrazentrifugenanalysen von Leberzellhomogenaten an mit T markiertem Tetrazyklin in vorbehandelten Ratten eine charakteristische und signifikante Tetrazyklinfluoreszenz in allen Fraktionen. Elektrophoretische Untersuchungen von gelöstem Mitochondrienprotein zeigten eine Übereinstimmung der Tetrazyklin-

fluoreszenz und der Tetrazyklinradioaktivität mit der beta-Lipoproteidfraktion der Mitochondrien. Als weiterer Hinweis für die spezifische Affinität des Tetrazyklins zu den Mitochondrien wird die Fähigkeit bewertet, in Gegenwart von Ca-Ionen die beta-Lipoproteidfraktion des Mitochondrienlysates präzipitieren zu können. Nur in den Mitochondrien soll das Tetrazyklin in einer Bindung an die beta-Lipoproteide vorliegen. Es mag hier erwähnt sein, daß die Mitochondrien in Gegenwart von ATP Magnesium, Kalzium und andere mehrwertige Ionen aufnehmen und konzentrieren (RAPOPORT) können.

Die stärkste Tetrazyklinfluoreszenz fanden wir in unseren Tetrazyklinversuchen im Knochengewebe. Hier markierte es als strahlend gelber Saum die Knochenränder und als feinerer gelber Saum die Knochenhöhlchen. Unsere Ergebnisse fanden wir in den Arbeiten zahlreicher anderer Autoren bestätigt (RALL u. Mitarb., ACKERMANN, BAILY, BRANCENI u. Mitarb., ENGELBART u. Mitarb., FROST, HARRIS, HÄKKINEN u. Mitarb., HULTH, LAAS, Mc LEAY u. Mitarb., MALEK u. Mitarb., MILCH u. Mitarb., OWEN, STEFFENELLI). Dabei ist das Tetrazyklin nicht an altes Knochengewebe gebunden, sondern zu seiner Fixation scheint es solche Bedingungen zu benötigen, wie sie bei der Ossifizierung osteoiden Gewebes gegeben sind. Solche Bedingungen haben wir durch eine langdauernde Überdosierung von Vigantol zu simulieren versucht.

Die Wirkung des Vitamin D_3 besteht in einer Erhöhung der Nettoresorption von Ca und P aus dem Darm, einer Mobilisation des Ca aus dem Knochen und einer direkten Wirkung auf den Verknöcherungsprozess (RAPOPORT).

Eine Vit.-D_3-Hypervitaminose führt zur Erhöhung des Plasmakalziumspiegels. Infolgedessen fällt das Kalzium als Salz überall dort aus, wo es infolge verminderter Säuerung nicht mehr in Lösung gehalten werden kann. Dies ist an den Stellen der Fall, wo Säuren ausgeschieden werden: Im Magen (HCl), in der Lunge (H_2CO_3) und in den Nieren (Harnsäure). Der Kalk wird in das sonst unveränderte Gewebe eingelagert, insbesondere in die Membrane propriae und in die elastischen Fasern (HAMPERL). Allerdings konnte beobachtet werden, daß bei massiverer Kalkablagerung wegen Behinderung der Stoffwechselprozesse die Gewebe doch Schaden nahmen, was besonders deutlich am Magen in Erscheinung trat.

Den künstlich hervorgerufenen Kalkmetastasen sind bezüglich der Tetrazyklineinlagerung die in Verknöcherung begriffenen osteoiden Säume wachsender Knochen gleichzusetzen. Nach RAPOPORT findet die Knochenbildung in den fünf nachstehenden Einzelschritten statt:

1. Bildung der organischen Grundsubstanz mit dem Chondroitinsulfat sowie Bildung des Kollagens
2. Anreicherung von Ca^2-Ionen durch die sauren Mucopolysaccharide
3. lokale Freisetzung von anorganischem Phosphat
4. primäre Ausfällung von Calciumphosphat
5. Umlagerung des primären Phosphates in die endgültige Apatitform.

Nach HÄKKINEN, KORMANO, MALEK u. Mitarb., STEFFENELLI und MILCH u. Mitarb. bildet das Tetrazyklin mit ionisiertem Kalzium sehr beständige Komplexe. An allen Stellen mit einer hohen Konzentration von Kalziumionen ist daher mit einer starken und auch lang dauernden Tetrazyklinfluoreszenz zu rechnen. Diese

Vermutungen wurden durch unsere Versuche bestätigt, denn sowohl die osteoiden Säume der Knochen fluoreszierten, als auch alle Kalkmetastasen, die wir durch Vigantolüberdosierung erzielen konnten. Aus dem unter 5. angeführten Einzelschritt der Knochenbildung erhellt auch die Tatsache, warum fertig ausgebildeter Knochen nicht mehr in der Lage ist, Tetrazyklin aufzunehmen: Das Kalzium ist in der Apatitform so fest gebunden, daß es nicht mehr zur Komplexbildung mit Tetrazyklin befähigt ist.

Eine zunächst ungewollte Tetrazyklinpräzipitation durch Kalziumionen erzielten wir durch Injektionen von 5-%iger Kalziumchloridlösung in die Oberschenkel von Ratten. Die Injektionen waren zur Erzeugung von Muskelnekrosen vorgenommen worden. Bei allen Versuchstieren waren Nekrosen nachweisbar, die nun erwartungsgemäß im UV-Licht eine deutliche gelbe Tetrazyklinfluoreszenz der zerstörten Muskelzellen und des zum Teil reaktiv infiltrierten Bindegewebes zeigten.

4.4 Tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz in pathologisch veränderten parenchymatösen Organen

WerdenTetrazykline außer an Kalziumionen und an Mitochondrien auch an anderen Substanzen im Organismus gebunden vorgefunden ? Es ist anzunehmen, daß ein gesunder Organismus in der Lage ist, das Tetrazyklin nach 24 Stunden restlos aus dem Körper zu eleminieren, von der Einlagerung in junges Knochengewebe abgesehen. Unter pathologischen Verhältnissen allerdings ändert sich die Verweildauer des Tetrazyklins im Organismus. Als Begründung hierfür werden verschiedene Ursachen diskutiert.

EHRLICH u. Mitarb. haben den Tetrazyklinfluoreszenztest bei Synovialflüssigkeitsuntersuchungen rheumakranker Patienten angewandt. Dabei zeigten säulenchromatographische Untersuchungen, daß Tetrazykline offenbar an größere Eiweißmoleküle gebunden waren, da 3o % der fluoreszierenden Substanzen im Chromatogramm wanderten, 7o % dagegen nicht.

KORMANO u. Mitarb. untersuchten untergehendes Hodengewebe und fanden eine selektive Anfärbung der degenerativ veränderten Gewebspartien, welche sie als besondere Affinität des Tetrazyklins zu Sulfomucopolysacchariden, niedermolekularen Lipoproteiden und Kalzium interpretierten.

Andere Autoren fanden gelb fluoreszierende Substanzen in entzündlichem und nekrotischem Gewebe und interpretierten diese Befunde als Komplexbildung der Tetrazyklinderivate mit Peptiden, Polypeptiden, Lipoproteiden und Kalzium (STEFFENELLI, ACKERMANN, CABRERA, MALEK u. Mitarb.).

WEISSBERG fand in lokalen Entzündungsherden bei Ratten eine gelbe Fluoreszenz und deutete sie dahingehend, daß das im Plasma gelöste Tetrazyklin im Entzündungsgebiet zurückgehalten wird, mit dem Exsudat die Blutgefäße verläßt und in der Phase der Resorption auch in den Lymphgefäßen gefunden werden kann.

Eigene Untersuchungsreihen, in denen Nekrosen durch lokale Vereisung mit CO_2-Schnee an Nieren, Magen, Jejunum und Colon erzeugt wurden, zeigten in den geschädigten Bezirken eine deutlich vermehrte Gelbfluoreszenz. Ob diese Fluoreszenz mit Sicherheit auf eine Anreicherung von Tetrazyklin zurückzuführen ist, vermag nicht mit Sicherheit gesagt werden. Es scheint daher angezeigt, die grundlegenden Stoffwechselvor-

gänge, die sich in einem Entzündungs- und Nekroseherd abspielen, noch einmal klar aufzuzeigen: Sind Bakterien das entzündungsauslösende Agens, so bewirken die bakterieneigenen Fermente eine Zerstörung des Gewebes, sowohl der Stützsubstanzen als auch der Zellen. Hinzu kommt eine Stoffwechseländerung des entzündeten Gewebes. Im Vordergrund stehen Glykogenolyse, eine erhöhte Laktatbildung, eine starke p_H-Senkung und Eiweißabbauvorgänge. Die terminalen Gefäße sind gelähmt, sodaß es zu einer Hyperämie und Stase kommt. Außerdem wandern verschiedene Zellarten in das Entzündungsgebiet ein. In einer späteren Phase kommt die Antikörperbildung hinzu (RAPOPORT). Bleibt das schädigende Agens erhalten, so tritt durch weitere Gewebsschädigung die Nekrose ein: Die Zellmembranen werden durchlässig, die zelleigenen Fermente vollenden das Zerstörungswerk, unterstützt von den in die Zelle eingedrungenen Kalziumionen (HAMPERL). Eiweiß und Fibrinogen gerinnen. Schließlich liegt am Ort der Schädigung ein Detritus aus zerfallenen Zellen, zerstörten Bindegewebsstrukturen und geronnenen Plasmabestandteilen.

Anknüpfend an die Untersuchungsergebnisse und die Deutungsversuche von EHRLICH u. Mitarb., KORMANO u. Mitarb., STEFFENELLI, ACKERMANN, CABRERA, MALEK u. Mitarb. und WEISSBERG wird es für möglich gehalten, daß in diesem Zelldetritus Substanzen vorhanden sind, die Tetrazykline zu binden vermögen, vorausgesetzt, daß es in hinreichender Konzentration an den geschädigten Ort gelangen konnte oder kann, was bei fehlender Blutversorgung allerdings nicht immer der Fall sein dürfte.

Die fehlende gelbe Fluoreszenz in den Versuchsreihen der Tetrachlorkohlenstoffvergiftungen an Leber, Magen und Niere läßt sich dahingehend deuten, daß die in den mikroskopischen Präparaten nachweisbaren Nekrosen und vakuolären Degenerationen keine von den oben erwähnten Substanzen enthielten, die das Tetrazyklin in irgendeiner Form zu binden vermochten.

Zusammenfassend ist über das Verhalten der Tetrazykline in normalen und pathologisch veränderten Geweben zu sagen:

1. länger als 24 Stunden wird die Tetrazyklinfluoreszenz im gesunden Organismus nur in den Exkretionsorganen nachgewiesen,
2. ist ein Gewebe pathologisch verändert, so hängt seine Fähigkeit der Tetrazyklinspeicherung vom Gehalt der Substanzen ab, die Tetrazyklin über längere Zeit zu binden vermögen. Es wird vermutet, daß diese Substanzen höhermolekulare Eiweiße sind, Polypeptide, Mucopolysaccharide, Peptide oder niedermolekulare Lipopolysaccharide. Voraussetzung für eine Anlagerung des Tetrazyklins an diese Substanzen ist das zeitliche und örtliche Zusammentreffen der Reaktionspartner.
3. Mit Kalziumionen geht Tetrazyklin eine feste Bindung ein, so daß es an allen Orten mit einer Anreicherung dieser Ionen zu einer Tetrazyklinfluoreszenz kommt (in Verkalkung begriffenes Osteoid, Kalkmetastasen in Magen, Lunge und Niere bei erhöhtem Blutkalziumspiegel und in nekrotischem Gewebe.

4.5 Verhalten des Tetrazyklins in Tumorgewebe

Der Tetrazyklinfluoreszenztest war für tumordiagnostische Untersuchungen eingeführt worden, nachdem beob-

achtet worden war, daß - bei makroskopischer Betrachtung im UV-Licht - tumoröses Gewebe aus Karzinomen des Verdauungstraktes und des Respirationstraktes nach einer Tetrazyklinvorbehandlung gelb fluoreszierte (BERK u. Mitarb., GIRALDI u. Mitarb., HAVEMANN). Es stellt sich nun die Frage, inwieweit sich eine Tumorzelle von einer normalen Körperzelle unterscheidet und wodurch sie zu einer selektiven Tetrazyklinanreicherung befähigt ist.

Seit den klassischen Untersuchungen von Otto WARBURG über den Stoffwechsel bösartiger Geschwülste sind eine Fülle von Tatsachen zusammengetragen worden, ohne daß jedoch wesentliche Fortschritte erzielt werden konnten. Der heutigen Auffassung nach unterscheidet sich eine Tumorzelle, ohne auf Besonderheiten eingehen zu wollen, in Folgendem von einer normalen Körperzelle (RAPOPORT):

1. Die Fähigkeit, unter aeroben Bedingungen Lactat zu bilden, ist, außer den Erythrozyten, der Retina und in geringem Maße den Hirnzellen, nur den Tumorzellen eigen. Durch den Gärungsstoffwechsel ist der p_H-Wert erniedrigt.
2. Durch die hohe Wachstumsgeschwindigkeit und die intensive Eiweißsynthese ist der Nucleinsäuregehalt erhöht, ebenso der Gehalt an Ribonucleinsäure.
3. Der Verlust spezifischer Stoffwechselleistungen geht mit dem Grad der Unreife parallel und ist typisch für die verschiedenen Tumorarten.

Histologische und zytologische Merkmale des Tumorgewebes sind:

1. Polymorphie von Gewebe, Zellen, Kernen und großen oft multiplen Nucleolen
2. Hyperchromasie

3. Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kernes verschoben
4. hoher RNS-Gehalt, was zur Basophilie des Plasmas führt
5. verminderte Zahl der Mitochondrien
6. zahlreiche und atypische Mitosen
7. das Wachstum ist infiltrierend, destruierend und atypisch. Durch die erhöhte Wachstumsgeschwindigkeit neigen zentrale Bezirke solider Tumoren zu regressiven Metamorphosen.

Unsere Versuchsreihen an intramuskulären und subcutanen Impftumoren auf Ratten und Mäusen brachte bezüglich der Tetrazyklinanreicherung ein negatives Ergebnis: weder in normalen Tumorzellen noch in zentralen Tumornekroseherden konnte eine gelbe Tetrazyklinfluoreszenz nachgewiesen werden.

Untersuchungen anderer Autoren zeigten hiervon differierende Befunde: Mc LEAY fand eine deutliche Tetrazyklinfluoreszenz in Tumorgewebe, und zwar war die Fluoreszenz umso deutlicher, je anaplastischer der Tumor war. Er führt die Tetrazyklinanreicherung auf den anomalen Metabolismus zurück. Tumornekrosen zeigten keine Fluoreszenz.

STEFFENELLI schreibt die Tetrazyklinfluoreszenz in Tumoren einer besonderen Bindung an nekrotisch verändertes,nicht jedoch an erhaltenes Tumorgewebe zu.

MALEK u. Mitarb. fanden eine besonders deutliche Fluoreszenz in Gebieten der Kalzifizierung.

ENGELBART u. Mitarb. fanden keine besondere Affinität des intakten Tumorgewebes zu Tetrazyklinen, dagegen aber in Tumornekrosen.

SCHLEGEL u. Mitarb. fanden in experimentellen Tiertumoren eine positive Tetrazyklinfluoreszenz.

Wie lassen sich diese verschiedenen Versuchsergebnisse erklären ?

Aufgrund der heutigen Vorstellung über den Stoffwechsel der intakten Tumorzelle finden wir keinen Hinweis, warum sich die Krebszelle bezüglich der Tetrazyklinanreicherung anders verhalten sollte, als eine normale Körperzelle; im Gegenteil, die geringere Zahl an Mitochondrien hätte verminderte Fluoreszenz zur Folge, ließen die Untersuchungen von PAMUKCU an Leberzellmitochondrien einen Analogieschluß zu.

Haben sich aber im Tumor Nekroseherde ausgebildet - was bei der hohen Wachstumsgeschwindigkeit in den Tumorzentren nicht selten der Fall ist - so kann vermutet werden, daß dieselben Gewebsveränderungen, die in experimentellen Nekrosen an verschiedenen Organen zu einer Tetrazyklinanreicherung führten, auch in einer Tumornekrose eine Tetrazyklinfluoreszenz hervorrufen können. Dies erklärt die positive Tetrazyklinfluoreszenz der Tumornekrosen.

Die in unseren Versuchsreihen gefundenen fehlenden Tetrazyklinfluoreszenzen in Tumornekrosen mögen dahingehend erklärt werden, daß die Ursache der Nekrose - nämlich die mangelnde Blutzufuhr und Gewebsernährung - auch Ursache der negativen Tetrazyklinfluoreszenz ist: das Tetrazyklin konnte nicht an den Ort gelangen, wo es durch Anlagerung an bestimmte Substanzen (Eiweißstoffe, Polypeptide, Mucopolysaccharide, Lipopolysaccharide) hätte zurückgehalten werden können.

Folgende Faktoren scheinen uns also ausschlaggebend für eine Tetrazyklinanreicherung in Tumorgewebe zu sein:

1. Der Grad der Tumornekrosen
2. Die Blutversorgung des Tumors
3. Die perifokale Entzündung mit Entzündungsödem und Ablagerung verschiedener organischer und anorganischer Stoffe.

Der Tetrazyklinfluoreszenztest wird angewandt in der Vorstellung, daß Tumorgewebe selektiv zur Speicherung des Tetrazyklins fähig ist. Untersuchungen anderer Autoren (ABERLE, ACKERMANN u. Mitarb., CUMINGS u. Mitarb., HAHN-PETERSEN, HUPE, NESSEL, RUGTVEIT, JUMMEL, TAPP u. Mitarb.) und eigene tierexperimentelle Studien haben aber ergeben, daß eine tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz in Tumorgewebe nicht tumorspezifisch ist, sondern nur einen Hinweis auf tetrazyklinfixierende Substanzen gibt, die auch in nicht karzinomatös entarteten Geweben anzutreffen sind. Die Beweiskraft des Tetrazyklinfluoreszenztestes muß daher sehr zurückhaltend bewertet werden.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

Im Fluoreszenzmikroskop wurde normales Gewebe verschiedener Organe von Versuchstieren (Ratten) auf seine Autofluoreszenz untersucht, und in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen von HAMPERL wurden verschiedenfarbig fluoreszierende Stoffe in den einzelnen Organen gefunden: gelb fluoreszierten Lipofuscingranula in den Ganglienzellen, in den Herzmuskelzellen, in den Tubulusepithelien der Niere und in den Zellen der Leberacinuszentren. Ebenfalls gelb fluoreszierten Eiweißschollen in den Zellen des retikulo-histiocytären Systems, zum Teil beruht diese Fluoreszenz aber auch auf dem Gehalt von Lipofuscin.

Die Eiweißstoffe der elastischen und kollagenen Fasern und der Grundhäutchen fluoreszierten grün.

Die tetrazyklininduzierte Sekundärfluoreszenz wurde an normalem Gewebe, sowie an experimentellen Koagulationsnekrosen durch Kälteeinwirkung, an ischiämischen Nekrosen, an Organschädigungen, die durch Tetrachlorkohlenstoff und Kalziumchlorid erzeugt worden waren und an Kalkmetastasen untersucht. In sechs Versuchsreihen wurde an verschiedenen Implantationstumoren (Walker, Jensen, Yoshida, Crocker, Ehrlich und L-4946-Lymphosarkom) an Ratten und Mäusen die Tetrazyklinspeicherfähigkeit von Tumorgewebe geprüft.

Die Untersuchungsergebnisse lassen folgende Aussagen zu:

1. "Normale" Tumorzellen mit unbeeinträchtigtem maximalem Stoffwechsel zeigen wie jede andere normale Körperzelle keine verlängerte Tetrazyklinspeicherfähigkeit.
2. Degenerativ veränderte oder nekrotische Tumorzellen können wie jede andere degenerativ veränderte oder nekrotische Körperzelle in Abhängigkeit vom Gehalt an noch unbekannten Stoffwechselprodukten - es werden Eiweißstoffe, Lipoide, Mucopolysaccharide, Polypeptide und Peptide diskutiert - vom Grad der Verkalkung und von der Gefäßversorgung eine vermehrte oder verlängerte Tetrazyklinspeicherfähigkeit und eine verstärkte gelbe Tetrazyklinfluoreszenz im UV-Licht zeigen.

Der Anwendungsbereich des Tetrazyklinfluoreszenztestes als Suchmethode bei Malignomen des Verdauungstraktes und der oberen Luftwege scheint bei diesen Versuchsergebnissen zumindest eingeschränkt. Ferner scheint

das Tetrazyklin wenig geeignet als Schleppersubstanz für Zytostatika bei diesen Tumoren (SIRTORI).
Die Anwendung des Tetrazyklinfluoreszenztestes scheint dagegen sinnvoll zu sein bei diagnostischen oder therapeutischen Eingriffen an Knochentumoren.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ABERLE, S. Basal gastric secretions.- A study in yellow-orange fluorescence. J. Amer.Med.Ass. 185, 777 (1963)

2. ACKERMANN, N.B. und A. McFEE Tetrazyklinfluoreszenz in gutartigem und bösartigem Gewebe. Surgery 53, 247 (1963)

3. ACKERMANN, N.B. Limitations in the use of Tetracycline Antibiotics for tumor diagnosis. Antibiotica-Kongress Prag 1964

4. ACKERMANN, N.B. Verwendung von Tetracyclinen für die Tumordiagnose. Med.Klin. 59, 1802 (1964)

5. BAILEY, R.W. Tetracycline bei der Lokalisation von Knochentumoren. Med.Klin. 59, 1802 (1964)

6. BARGMANN, W. Knochengewebe. Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. G. Thieme-Verlag 4, 142-168 (1962)

7. BERK, J.E. u. S.M. KANTOR Die Identifikation von Magenkrebs durch Fluoreszenz des Magensediments nach Demethylchlortetrazyklin-Verabreichung. Clin.Res. 9, 237 (1961)

8. BERK, J.E. u. S,M. KANTOR Demethylchlortetracycline-induced fluorescence of gastric sediment.- Use to differentiate benign and malignant gastric lesions. J. Amer. Med.Ass. 179, 997-1000 (1962)

9. BERK, J.E.
Der Tetracyclin-Fluoreszenztest zum Nachweis des Magencarcinoms. Triangel 4, 22-25 (1963)

1o. BRANCENI, D. and J. LEVY
Utilisation of tetracycline for detection of extra-osseous calcification phenomena. Compt. Rend. Soc. Biol. 155, 1469-1472 (1961)

11. DU BUY, H.G. and J.L. SHOWACRE
Selective localisation of tetracycline in mitochondria of living cells. Science 133, 196-197 (1961)

12. CABRERA, A., J. JURADO, S. LAPAVA and J. PICKREN
Tetracycline fluorescence of some human tumors. N.Y.St.J. Med. 64, 981-984 (1964)

13. CUMINGS, GOMPERTZ und KIER
Bewertung der Tetracyclin-Fluoreszenz bei der Diagnose des Magen-Ca's verglichen mit der Cytologie. Ann. intern. Med. 61, 56-63 (1964)

14. DONSKY, H.
Tetracyclin-Fluoreszenz beim verhornenden Plattenepithel-Ca. Arch. Derm. 92, 388-393 (1965)

15. EHRLICH, G.E., COHEN, S., TIGER, M. u. G. WEINBAUM
J. Amer. Med.Ass. 193, 581 (1965)

16. ENGELBART, K., D. GERICKE u. A. SÖDER
Tierexperimenteller Beitrag zur Frage der Einlagerung von Tetracyclinen. Ztschr. f. Krebsforschung 66, 31o-315 (1964)

17. FROST, H.M. Tetracycline labeling of bone and the zone of demarcation of osteoid seams. Can. J. Biochem. Physiol. 4o, 485-489 (1962)

18. GIRALDI, N. u. C. BRASCA Die Anwendung des Tetrazyklin-Fluoreszenztestes im Auswurf als diagnostische Methode bei Lungenkrebs. G. ital. Mal. Tor. 2o, 9 (1966)

19. HAHN-PETERSEN, A., V. DREWES, E. JESTING Fluoreszenz des Magensediments nach Tetrazyklingabe. Acta med. scand. 174, 643-644 (1963)

2o. HARRIS, W. The in vivo distribution of Tetracycline in canine bone. J. Bone Joint Surg. 44 A, 13o8-132o (1962)

21. HÄKKININ, I. u. I. LINDGREN Die Ablagerung von Tetracyclinen in Kalkmetastasen der Magenwand, hervorgerufen durch große Dosen von Dihydrotachysterin und Vit.D_3. Acta path. microb. scand. 59, 429-434 (1963)

22. HAMPERL, H. Verkalkungen infolge Veränderungen der Säfte. Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie 24./25. Auflage, 137,(196o) Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg

23. HAMPERL, H. Die Fluoreszenzmikroskopie menschlicher Gewebe. Vorch.Arch.Pathol.Anat. (Berlin) 2929, 1-51 (1934)

24. HAVEMANN, K. Tetrazyklinfluoreszenz von Magen- und Bronchialsekret zum Tumornachweis. Verh. dtsch.Ges.inn. Med. 69, 163-166 (1966)

25. HELANDER, S., L. BÖTTIGER On the distribution of Terramycin in different tissues. Acta med. scand. 147, 71-75 (1953)

26. HULTH, A. and S. OLERUD Tetracycline labeling of growing bone. Acta Soc.Med. Upsaliem 67, 219-231 (1962)

27. HUPE, K. Die Tetrazyklinfluoreszenz maligner Tumoren. Krebsforschung und Krebsbekämpfung, Sonderband VI, Verlag Urban und Schwarzenberg.

28. JUMMEL, F. Krebsdiagnose durch zytologische Untersuchung in Verbindung mit dem Tetracyclin-Test. MMW 46, 2112-2114 (1964)

29. KLINGER, J. u. KATZ, R. Tetracyclin-Fluorescense in the diagnosis of gastric carcinoma. A preliminary report. Gastroenterologie 11, 29-32 (1961)

30. KORMANO, M. u. M. NIEMI Med. exp. 11, 383-388 (1964) The use of Tetracyclin Fluorescence in experimental testicular Pathology.

31. KUSCHINSKY, G. u. H. LÜLLMANN
Tetrazykline
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, Thieme-Verlag, 1, 231-232 (1964)

32. LAAS, E.
Der Ablauf der Tetrazyklinfluoreszenz im Menschen.
Zbl. allg. path. Anat. 1o3, 128 (1962)

33. McLEAY, J.F.
The use of systemic Tetracyclines and Ultraviolet in cancer detection. A preliminary report.
Ass. J. Surgery 96, 415-419 (1958)

34. McLEAY, J.F. and B.R. WALSKE
Tetracycline fluorescence in bone lesions.
J. Bone Jt. Surg. 42A, 94o-944 (1961)

35. McLEAY, J.F. and B.R. WALSKE
Ralationship of tetracyclin to carcinoma.
Ann. Surg. 156, 313-315 (1962)

36. LOSCHI, G. und L. MANINI
Bedeutung des Tetracyclin-Fluoreszenztestes im Auswurf für die Diagnose von Bronchialtumoren.
Policlinico 73, 489 (1966)

37. MALEK, P. and J. KOLK
Penetration of Chlortetracycline into tissue affected by pathological changes.
Antibiotics and Chemotherapy 1o, 488 (196o)

38. MALEK, P., J. KOLC and F. ZAK
Further studies on fluorescence of Tetracycline analogues in pathologically changed tissues.
Antimicrobial Ag. Ann. 1969, 2o6-2o9

39. MALEK, P., V. ZASTAVA, F. ZAK, S. KOCVARA u. J. KOLC
Verteilung und Retention von Tetracyclinanalogen im Nierengewebe unter einigen path. Bedingungen.
J. Urolog. 89, 784-792 (1963)

40. MILCH, R.A., D.P. RALL and J.E. TOBIE
Bone localisation of the Tetracyclines.
J. of Nat. Cancer Inst. 19, 87-93 (1957)

41. NESSEL und W. WIGGERMANN
Der Tetrazyklin-Fluoreszenztest in der Chirurgie maligner Tumoren.
HNO 13, 246-249 (1965)

42. OWEN, L.N.
Fluorescence of Tetracycline in bone tumours, normal bone and teeth.
Nature 19o, 5oo-5o2 (1961)

43. PALAGIANO, V.
Verwendung der mit Tetracyclin hervorgerufenen Fluoreszenz für die Magen-Ca-Diagnose.
Arch. ital. Mal. Appar. dig. 3o, 5o1-5o8 (1963)

44. PAMUKCU, F.S., J. GERSTEIN, R. PALMA a. S.J. GRAY
Localisation of tritiated tetracycline in mitochondria of rat liver cells.
Proc.Soc. Expetl. Biol. Med. 113, 575-587 (1963)

45. PHILIPPS, J.W., E.G. COBB, V. RICHARDS, W.D. RHODES D. LOEHRER and J. RITCHIE
The deposition and retention of tetracyclin in cancer.
Americ. J. Surg. 1oo, 384-388 (196o)

46. RALL, D.P., TI LI LOO, M. LANE and M. KELLY
Appearance and persistance of fluorescent material in tumor tissue after tetracycline admanistration.
J. nat. cancer Inst. 19, 79 (1957)

47. RAPOPORT, M.
Die Mitochondrien.
Lehrbuch der Biochemie, Verl. Volk u. Gesht. 4, 166-169 (1966)

48. RAPOPORT, M.
Die Biochemie der Entzündung.
Lehrbuch d. Biochemie, Verl. Volk u. Gesht, 4, 825 (1966)

49. RAPOPORT, M.
Wirkungsweise des Vit. D.
Lehrbuch der Biochemie, Verl. Volk u. Gesht. 4, 9oo-9o2 (1966)

50. RUGTVEIT, A. and L. HOPE
Tetracycline induced fluorescence in gastric cancer and benign ulcers.
Gastroenterology 47, 32-34 (1964)

51. SANDLOW, L., H. ALLEN and H. NECHELES
The use of tetracycline fluorescence in the detection of gastroc malignancy.
Ann. intern. Med. 58, 4o9-413, (1963)

52. SANDLOW, L. und H. NECHELES
Tetracyclinfluoreszenz bei der Aufdeckung bösartiger Neubildungen.
J. Amer. med. Ass. 189, 363-365 (1964)

53. SCHLEGEL, D. und D. UTTERMARK
Krebsdiagnose durch zytologische Untersuchungen in Verbindung mit dem Tetracyclin-Fluoreszenztest.
MMW 1o6, 2387-2388 (1964)

54. SHERMAN, H., CH. CHRYSSANTHON, M. SUKOFF, D. MININBERG, E. BECKMANN, M. WEINGARTEN
Gastroenterology 45, 84-89 (1963)

55. SIRTORI, C.
Tetracyclines in tumor tissues.
Lancet 18, 588 (1965)

56. SLATOPOSKY, E.
The tetracycline fluorescence test in the diagnosis of cacinoma. A. report of 9o cases.
J. int. Coll. Surg. 39, 556-559 (1963)

57. STEFFENELLI, N.
Die klinische Bedeutung der Fluoreszenz der Spülflüssigkeit des Magens nach Tetracyclingabe.
Wiener klin. Wschr. 2, 33-35 (1964)

58. STEFFENELLI, N.
Beobachtungen über die Tetrazyklin-Fluoreszenz maligner Tumoren.
MMW 48, 245o-2453 (1966)

59. THANNHAUSER, S.J.
Verkalkung von Geweben.
Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten, 591-6o5 (1929)

60. TAPP, E., P. CARROLL and K. KOVASC
Tetracyclin-fluorescence in experimental tumours.
Brit. J. Cancer 19, 538 (1965)

61. WEISSBERG, M.
Resorption und Ausscheidung fluoreszierender Substanzen.
Zschr. Krebsforschung 62, 668-674 (1959)

An dieser Stelle möchte ich dem Direktor der Chirurgischen Univ.-Klinik Marburg/L, Herrn Prof. Dr. Schwaiger, danken, daß es mir ermöglicht wurde, an seiner Klinik die norwendigen Messungen und Untersuchungen durchzuführen. Herrn Oberarzt, Priv.Doz. Dr. K. Hupe möchte ich für die Überlassung des Themas "Tierexperimentelle Untersuchungen zur intravitalen Fluorochromierung mit Oxytetrazyklin" danken und insbesondere für seine freundliche und tatkräftige Hilfe und Unterstützung bei den experimentellen Arbeiten und bei der Auswertung der Ergebnisse.

Den medizinischen Assistentinnen Frl. Zieger und Frl. Novack möchte ich danken für die freundliche Unterstützung bei den labortechnischen Arbeiten.

Meinen Kondoktoranten Herrn Dr. med. G. Helbig und Herrn Dr.med. Bernd Holstiege möchte ich für die fruchtbare Zusammenarbeit danken.

L e b e n s l a u f .

Am 11.1.194o wurde ich in Weißenfels/Saale geboren als Tochter des HNO-Arztes Dr. Ludwig Domnick und seiner Ehefrau Agnes, geb. Glatzer. Die Grundschule besuchte ich in Weißenfels vom Herbst 1946 bis zum Frühjahr 195o. 1948 kam mein Vater aus russischer Kriegsgefangenschaft wieder nach Hause. 195o siedelte er mit seiner Familie nach Bielefeld über, wo wir auch heute noch wohnen. In Bielefeld besuchte ich noch anderthalb Jahre die Grundschule und wechselte 1952 auf die Cecilienschule über, einem neusprachlichem Mädchengymnasium. Dieses verließ ich Ostern 1962 mit dem Abitur und begann mein Medizinstudium in Münster im SS 1962. Dort legte ich im WS 1962/63 das Vorphysikum und im SS 1964 das Physikum ab. Das klinische Studium begann ich mit dem WS 1964/65 an der Medizinischen Akademie in Düsseldorf, daran schlossen sich zwei Semester an der Universität in Innsbruck an. Im SS 1966 kehrte ich nach Deutschland zurück, immatrikulierte mich an der Philipps-Universität in Marburg/L und legte dort das medizinische Staatsexamen im Juli 1968 ab.

Im SS 1966 übernahm ich an der Chirurgischen Univ.-Klinik in Marburg/L eine Dissertationsarbeit unter dem Titel "Tierexperimentelle Untersuchungen zur intravitalen Fluorochromierung mit Oxytetrazyklin".

Seit September 1968 bin ich als Medizinalassistentin im Pathologischen Institut der Städtischen Krankenanstalten in Bielefeld tätig.

Meine akademischen Lehrer der Universitäten in Münster, Düsseldorf, Innsbruck und Marburg waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Münster:

Becher, Brettschneider, Caspers, Eichner, Erhard, Girkon, Hoppe, Kaja, Kappler, Klemm, Knoche, Lehnartz, Lerche, Menne, Michell, Müller-Limmroth, Nolte, Pauleikhoff, Pieper, Rauen, Rensch, Rothschuh, Schratz, Schütz, von Verschuer.

In Düsseldorf:

Amelung, Baron, Bircks, Dibbelt, Effert, Greeff, Hüter, Jahnke, Kikuth, Meessen, Schadewaldt, Schild, Schlipköter.

In Innsbruck:

Baumgartner, Benger, Berger, Braunsteiner, Bösmüller, Gögel, Günther, Halhuber, Heinz, Kirchmair, Konzett, Lang, Lutz, Marberger, Platzgummer, Ruckensteiner, Tapfer, Wilfningseder, Wunderer.

In Marburg:

Beckmann, Behrend, Berendes, Bommer, Braun-Falco, Buchholtz, Clausen, Dittrich, Dölle, Exner, Gedigk, Hamm, Hardewig, Hildebrandt, Kleve, Knauff, Kreutz, Kunz, Lang, Lehmann-Grube, Marx, du Mesnil de Rochemont, Neurath, Oehme, Oehmig, Poetsche, Rohen, Salfeld, Siegert, Siess, Schiff, Schleyer, Schlosser, Schrappe, Streicher, Stromeier, Teller, Voss, Werner.